

DER EINFLUSS DER AMINOSAURE L-TYROSIN AUF DAS  
FRUCHTBARKEITSGESCHEHEN BEIM RIND

Gabriele Wetzel

*Ass  
München  
1905*



Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik  
der Universität München

Lehrstuhl: Prof. Dr. M. Rüsse

DER EINFLUSS DER AMINOSAURE L-TYROSIN AUF DAS  
FRUCHTBARKEITSGESCHEHEN BEIM RIND

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Gabriele Wetzel  
aus  
Saulgau

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

|              |                       |
|--------------|-----------------------|
| Dekan:       | Prof. Dr. W. Leidl    |
| Referent:    | Prof. Dr. M. Rüsse    |
| Korreferent: | Prof. Dr. D. Giesecke |

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

INHALT ..... 1

1. EINLEITUNG ..... 2

2. DIE VERGANGENE ZEIT ..... 3

3. DIE GEGENWÄRTIGE ZEIT ..... 4

4. DIE ZUKUNFT ..... 5

## Meinen Eltern

5. MEINE ELTERN ..... 6

6. MEINE SCHWESTERN ..... 7

7. MEINE BRÜDER ..... 8

8. MEINE SCHWAGERN ..... 9

9. MEINE NICHTEN ..... 10

10. MEINE NEFFEN ..... 11

11. MEINE KUNDE ..... 12



# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                                                                                                             | Seite |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| EINLEITUNG.....                                                                                                                                             | 1     |
| LITERATUR.....                                                                                                                                              | 2     |
| Neuroendokrine Regulation des Reproduktions-<br>geschehens.....                                                                                             | 2     |
| Neurotransmittersynthese in Abhängigkeit von<br>dem Angebot der Vorstufen - Beeinflussung der<br>Katecholaminneurotransmittersynthese durch<br>Tyrosin..... | 5     |
| MATERIAL UND METHODEN.....                                                                                                                                  | 16    |
| ERGEBNISSE.....                                                                                                                                             | 21    |
| Verlauf des endogenen Serumtyrosinspiegels<br>während des Zyklusgeschehens.....                                                                             | 21    |
| Feldstudie.....                                                                                                                                             | 29    |
| DISKUSSION.....                                                                                                                                             | 37    |
| ZUSAMMENFASSUNG.....                                                                                                                                        | 42    |
| SUMMARY.....                                                                                                                                                | 43    |
| LITERATURVERZEICHNIS.....                                                                                                                                   | 44    |
| LEBENS LAUF                                                                                                                                                 |       |



## EINLEITUNG

Endokrin bedingte Störungen des Fortpflanzungsgeschehens stellen in der modernen Rinderhaltung ein erhebliches Problem dar. Den Katecholaminen werden im Hinblick auf ihre Neurotransmittereigenschaften steuernde Funktionen in der Regulation des Endokrinums zugesprochen.

Eine Reihe wissenschaftlicher Untersuchungen der letzten Jahre ergeben Hinweise darauf, daß die Synthese von Neurotransmittern durch die Applikation ihrer chemischen Vorstufen gesteigert werden kann.

So liegen für die Aminosäure Tyrosin als Ausgangssubstanz für die Biosynthese der Katecholamine Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin Ergebnisse vor, die eine erhöhte Aktivität katecholaminerger Neurone nach Tyrosinapplikation aufzeigen.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es zu klären, ob durch die Applikation von Tyrosin eine Änderung des Serumtyrosinspiegels festzustellen ist, bzw. eine Beeinflussung des Zyklus und Reproduktionsgeschehens des Rindes nachgewiesen werden kann.

## LITERATUR

### 1. Neuroendokrine Regulation des Reproduktionsgeschehens

Die Steuerung des Reproduktionsgeschehens der Wirbeltiere erfolgt durch das, via positiver und negativer Feedback-Mechanismen im Sinne eines biokybernetischen Systems funktionierenden Zusammenspiels von Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden.

In der sogenannten hypophyseotropen Zone des Hypothalamus, welche im wesentlichen im Nucleus hypothalamicus ventromedialis und Nucleus infundibularis (s. arcuatus) repräsentiert ist, erfolgt die Bildung von Gonadotropin-Releasing-Faktoren. Diese werden pulsatil abgegeben und erreichen über die neurovaskuläre Kette des Tractus tuberoinfundibularis und des hypophysären Portalgefäßsystems die Adenohypophyse und bewirken dort die Synthese und Freisetzung der gonadotropen Hormone FSH und LH.

Diese erreichen auf humoralem Wege die Gonaden und induzieren dort die Bildung von Östrogen und Progesteron.

Über negative, vornehmlich im mediobasalen Hypothalamus lokalisierte Östrogen-Feedback-Mechanismen und positive, vorallem im Bereich der Area praeoptica, suprachiasmatica et anterior hypothalami ablaufende Östrogen-Feedback-Mechanismen, sowie die im Falle von Progesteron sich in der Hypo-

physe abspielende negative Rückkopplung, schließt sich der Regelkreis des Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Interaktions-systems.

Obwohl funktionell weitgehend autonom, unterliegt dieses System einer Beeinflussung sowohl durch exterozeptive Reize akustischer, visueller, olfaktorischer und sensorischer Natur, die über die Großhirnrinde und extrahypothalamische Strukturen wie das Limbische System, Epiphyse und Area praeoptica den Hypothalamus erreichen, als auch durch intero-zeptive Reize über das vegetative Nervensystem. Die Übertragung dieser Reizsignale erfolgt durch neuronal gebildete Transmittersubstanzen wie Acetylcholin, Dopamin, Noradrenalin und Serotonin.

Für die verschiedenen Neurotransmitterklassen scheinen unterschiedliche Wirkungsmechanismen zu existieren. Während die klassischen Monoamintransmitter auf die postsynaptische Zielzelle, entweder durch Depolarisation des Membranpotentials erregend, oder durch Hyperpolarisation hemmend wirken, scheinen die Peptid-Transmitter wie z.B. die Enkephaline und LHRH einen dämpfenden Effekt im Sinne einer "Wirkungs-entkräftung" anderer Signale auf die postsynaptische Zielzelle auszuüben (BLOOM, 1981). Die Rolle der einzelnen Neurotransmitter ist noch weitgehend ungeklärt.

Die Entladung cholinergischer Neurone scheint zur Dopamin-Ausschüttung aus tuberoinfundibulären Neuronen zu führen (VIJAYAN, 1980). Dopamin soll eine Depolarisation und Freisetzung von LH-RH bewirken. So fanden SCHNEIDER et al. (1970) nach intraventrikulärer Injektion von Dopamin in Rattengehirne eine Freisetzung von LH aus der Hypophyse. Gleichsinnige Befunde wurden von KAMBERI (1970) erhoben.

Demgegenüber ergaben Untersuchungen von HOKFELT et al. (1972) bei östrogenbehandelten Kaninchen nach intraventrikulärer Injektion von Noradrenalin in das Gehirn eine erhöhte LH-Freisetzung, während bei Dopamin-Applikation kein derartiger Effekt festgestellt wurde. SAWYER et al. (1974) beobachtete darüber hinaus eine Hemmung der durch Noradrenalin induzierten LH-Freisetzung.

FUXE (1976) kommt zu dem Schluß, daß hypothalamische im Nucleus arcus lokalisierte, dopaminerge Neurone LH-Freisetzung hemmen und hypothalamische noradrenerge Neurone die FSH/LH-Freisetzung fördern. Serotonin hingegen wird eine LH-RH hemmende Wirkung zugesprochen (SCHNEIDER, 1970).

Neueren Erkenntnissen zufolge wird Adrenalin eine wesentliche Bedeutung bei der LH-Freisetzung beigemessen. So stellte KALRA (1985) eine Verdoppelung der Blut-Plasma-LH-Konzentration nach intraventrikulärer Injektion von Adrenalin fest. Die gleichartige Applikation von Noradrenalin bzw. Dopamin ergab keine signifikante Beeinflussung der LH-Konzentration im Blutplasma.

Ebenso weisen Ergebnisse von MC KINNON (1985) auf eine maßgebliche Rolle steroidabhängiger adrenerger Neurone im mediobasalen Hypothalamus bei der Auslösung der präovulatorischen Gonadotropin-Freisetzung hin.

## 2. Neurotransmittersynthese in Abhängigkeit von dem Angebot der Vorstufen - Beeinflussung der Katecholaminneurotransmittersynthese durch Tyrosin.

WURTMAN (1982) beschreibt die Möglichkeit einer Beeinflussung von Gehirnfunktionen durch Nährstoffe am Beispiel von Tyrosin, Tryptophan und Cholin, welche als Ausgangssubstanzen der Neurotransmitter (Tyrosin-Dopamin -Noradrenalin-Adrenalin, Tryptophan-Serotonin, Cholin-Acetylcholin) fungieren. In Abbildung 1 ist die Katecholaminsynthese schematisch dargestellt.

Tyrosin stellt eine semiessentielle aromatische Aminosäure dar, deren Synthese aus der essentiellen Aminosäure Phenylalanin möglich ist. Ort dieser Synthese ist in erster Linie die Leber und in begrenztem Maße das Gehirn (IKEDA, 1965; GAL, 1966).

Tyrosin ist ein wesentlicher Proteinbaustein und ferner die Ausgangssubstanz für die Schilddrüsenhormone, das Pigment Melanin und die Katecholamine. WURTMAN (1981) vermutet, daß die Syntheserate von Tyrosin aus Phenylalanin unter bestimmten Umständen nicht ausreicht, um den Tyrosinbedarf des Organismus zu jedem Zeitpunkt zu decken.

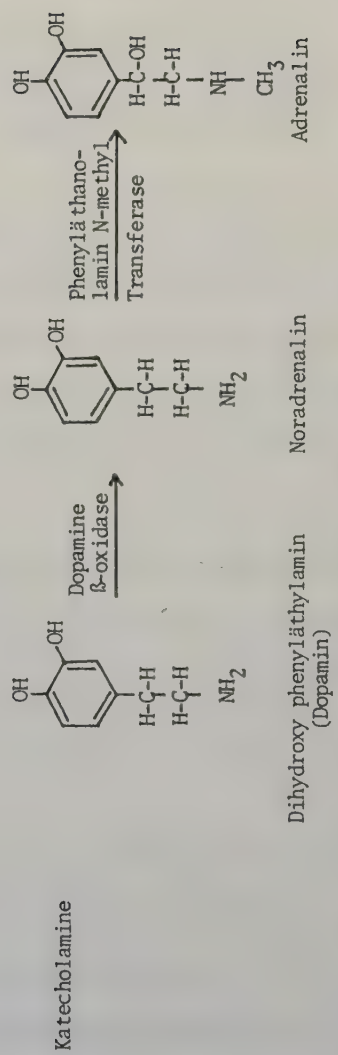
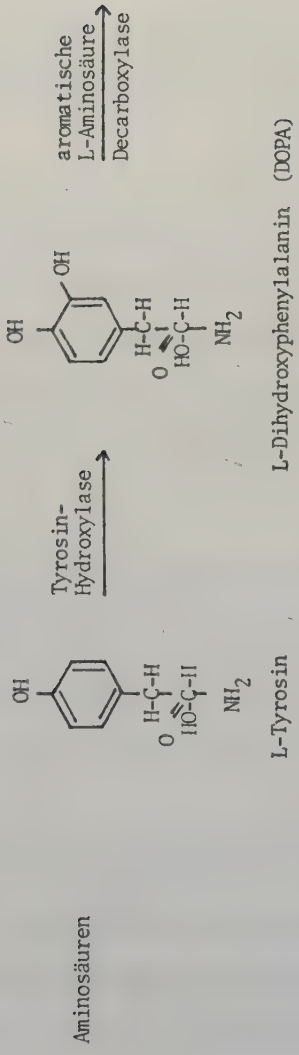


Abb. 1: Grobschematische Darstellung der Katecholaminbiosynthese in Anlehnung an GROWDON (1979)

- COMT = Katechol-O-methyltransferase  
 DOPAC = 3,4-Dihydroxyphenyllessigsäure  
 HVA = Homovanillinsäure  
 MAO = Monoaminoxidase  
 MTA = 3-Methoxytyramine

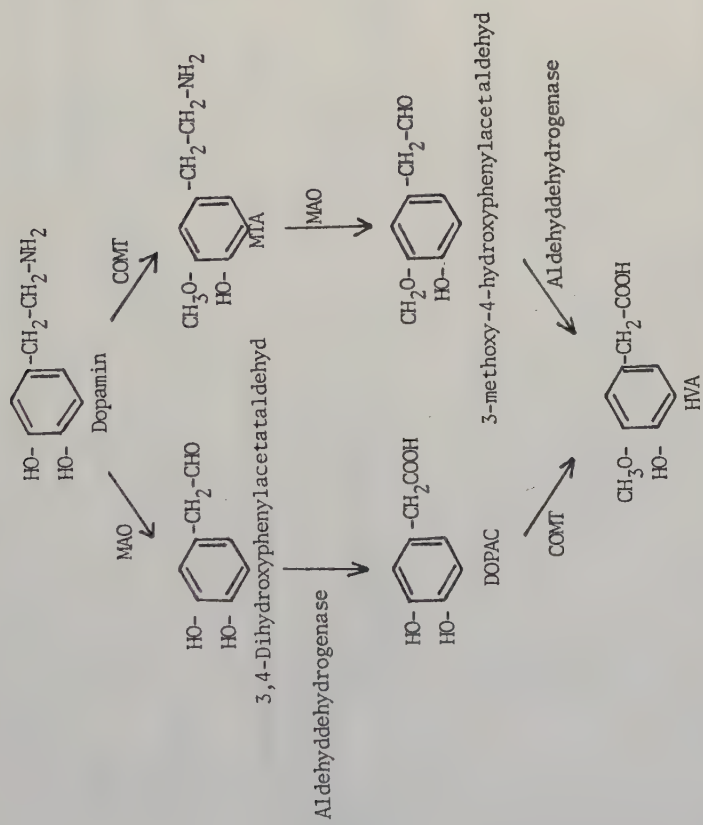


Abb. 2: Grobschematische Darstellung des Dopamin-Abbaus im Gehirn in Anlehnung an WEINER et al. (1978).

COMT = Katechol-O-methyltransferase  
 DOPA = 3,4-Dihydroxy-mandelsäure  
 MAO = Monoaminoxidase  
 MOPEG = 3-methoxy-4-hydroxy-phenyläthylenglycol  
 NM = Normetanephrin  
 VMA = 3-methoxy-4-hydroxy-mandelsäure  
 DOPEG = Dihydroxyphenyl-äthylenglycol

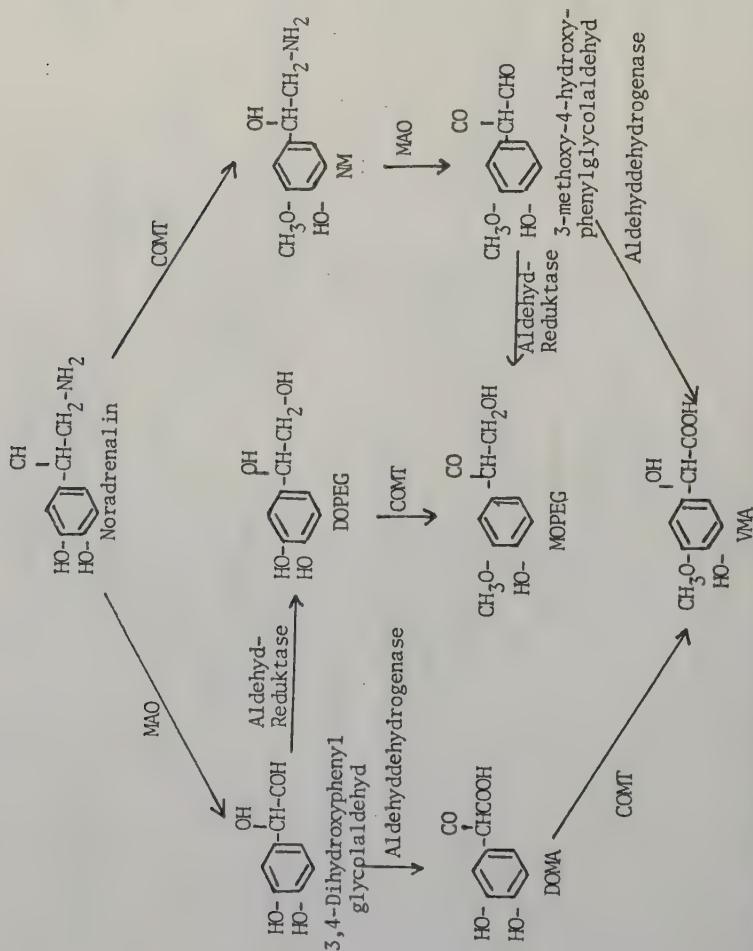


Abb. 3: Grobschematische Darstellung des Noradrenalin-Abbaus im Gehirn in Anlehnung an WEINER et al. (1978).

Eine Steigerung des Vorstufenangebots im Gehirn soll eine Erhöhung der Neurotransmittersyntheserate sowie eine vermehrte Freisetzung der Neurotransmitter nach sich ziehen und damit eine Verstärkung der neuronalen Signalübertragung bewirken können. Die Möglichkeit einer Steigerung der Neurotransmittersynthese durch ein erhöhtes Vorstufenangebot setzt eine Reihe von Bedingungen voraus, die im Falle der Synthese von Serotonin, Acetylcholin und den Katecholaminen weitgehend erfüllt zu sein scheinen (WURTMAN , 1982).

So darf die Blutkonzentration der betreffenden Vorstufe nicht durch Rückkopplungsmechanismen konstant gehalten werden. Ferner muß eine direkt proportionale Beziehung zwischen der Blutkonzentration und der Konzentration der Vorstufen im Gehirn bestehen, das heißt, die Bluthirnschranke muß für die Vorstufe passierbar sein und die Kapazität der Transportsysteme darf nicht ausgeschöpft sein.

Nach PARDRIDGE et al. (1979) besteht für die LNAA (Large neutral amino acid) wie Tryptophan, Tyrosin, Threonin, sowie für die verzweigtkettigen Aminosäuren Valin, Leucin, Isoleucin und Methionin ein gemeinsamer Transportmechanismus, der ohne Energieverbrauch die Diffusion der Substrate aus dem Blut in das Gehirn und umgekehrt erleichtern soll.

Da die Michaelis-Konstante dieses Transportsystems annähernd der Plasmakonzentration der Substrate entspricht, ergibt sich eine Konkurrenzsituation unter den einzelnen Aminosäuren. Der Tyrosin-Influx in das Gehirn ist somit von dem Konzentrationsverhältnis der LNAA in der Blutzirkulation abhängig. So kann die Applikation von Tyrosin zu einer Erhöhung der Tyrosinkonzentration im Gehirn führen, während die Gabe von Tryptophan bzw. Leucin eine Senkung der Tyrosin- und Dopa-Konzentration nach sich zieht (WURTMAN , 1974).

Durch Insulin kann eine maßgebliche Änderung dieses Aminosäure-Konzentrationsverhältnisses bewirkt werden. Im Rahmen der proteinanabolen Insulin-Wirkung, die vornehmlich die Skelettmuskulatur betrifft, kommt es zu einer Reduktion der Aminosäurekonzentration im Blut (FERNSTORM, 1972).

Da im Gegensatz zu den übrigen konkurrierenden Aminosäuren Tryptophan im Blut weitgehend an Albumin gebunden vorliegt (MC MENAMY , 1978), ergibt sich unter Insulin-Einfluß ein verstärkter intracerebraler Influx dieser Aminosäure .

Als weiteres muß eine geringe Bindungsfähigkeit des geschwindigkeitsbestimmenden Enzyms der Neurotransmittersynthese gegeben sein. Die konnte im Fall der Tyrosin- und Tryptophan-Hydroxylase von CARLSSON et al. (1978) bestätigt werden, der eine Sättigung dieses Enzyms unter physiologischen Bedingungen von 75% feststellte. Nach Aussage von PARDRIDGE (1979) ist das Enzym unter physiologischen Verhältnissen lediglich zu 35% gesättigt.

Als letzte Voraussetzung, damit eine Erhöhung des Vorstufenangebots eine Steigerung der Neurotransmittersynthese bedingen kann, fordert WURTMAN (1982) das Fehlen einer Produkthemmung des Schlüsselenzyms der Neurotransmittersynthese.

Im Hinblick auf die Tyrosinhydroxylase liegen dieser Forderung sich widersprechende Ergebnisse vor. Bereits 1966 stellten UDENFRIEND et al. eine Feedback-Hemmung der Tyrosinhydroxylierung durch L-Dopa und der Katecholamine fest. Für die Amine nennt er kompetitive, für L-Dopa nichtkompetitive Hemmungsmechanismen.

Ergebnisse von SCALLY (1977) lassen vermuten, daß die Syntheserate der Katecholamine in vivo vom dynamischen Zusammenspiel zwischen Substratkontrolle und rezeptorvermittelter Feedback-Hemmung der Tyrosinhydroxylaseaktivität abhängt. So findet er nach Applikation des Rezeptorantagonisten Haloperidol und anschließender intraperitonealer Gabe von Tyrosin eine erhöhte Dopaminsyntheserate im Nucleus caudatus der Ratte. Ohne vorherige Rezeptorblockade konnte er keine Steigerung der Dopaminsynthese in Zusammenhang mit einer Tyrosinapplikation feststellen.

Ebenso sprechen in vitro (NAGATSU, 1964) wie in vivo (LOVENBERG, 1974) ermittelte Ergebnisse für das Vorhandensein einer Produkthemmung der Tyrosinhydroxylase. Nach Gabe von Monoaminoxidasehemmern fanden die genannten Autoren eine Reduktion der Katecholaminbiosynthese bei erhöhter Katecholaminkonzentration im Zellkulturmedium bzw. Blutserum.

Dennoch gibt es eine Reihe von Untersuchungsergebnissen, die auf einen bestehenden Zusammenhang zwischen Tyrosinangebot und Katecholaminbiosynthese hinweisen. So konnte WURTMAN (1974) nach Tyrosinapplikation eine Steigerung des durch Dopa-Decarboxylasehemmung bedingten Dopa-Konzentrationsanstiegs im Gehirn nachweisen. Ebenso ergaben Untersuchungen von GIBSON und WURTMAN (1977) über einen weiten Konzentrationsbereich eine lineare Beziehung zwischen der intracerebralen Tyrosinkonzentration und der Katecholaminsynthese.

Im Jahre 1978 stellten GIBSON und WURTMAN bei der Ratte eine signifikante Verstärkung des Probenizid-induzierten intracerebralen Konzentrationsanstiegs des Noradrenalin-Metaboliten MOPEG-SO<sub>4</sub> (3-methoxy-4-hydroxyphenylethylenglycolsulfat) durch parenterale Applikation von Tyrosin fest.

SCALLY (1977) beobachtete bei Haloperidol-vorbehandelten Ratten nach Tyrosingabe einen Anstieg der striatalen Homovanillinsäurekonzentration.

MELAMED et al. (1980) untersuchten den Einfluß von Tyrosingaben auf die Dopaminfreisetzung im Corpus striatum mittels Bestimmung des Dopaminabbauprodukts Homovanillinsäure. Nach alleiniger Verabreichung von Tyrosin an Ratten ergab sich keine Konzentrationsänderung der Homovanillinsäure im Gehirn. Dagegen konnten die Autoren nach Induktion einer erhöhten Entladungsfrequenz nigrostriataler Neurone eine Abhängigkeit der Dopaminfreisetzung von der verfügbaren

Tyrosinkonzentration nachweisen. Die Erhöhung der Entladungsfrequenz nigrostriataler Neurone wurde in diesen Experimenten durch eine teilweise Zerstörung dieser Nervenzellen, mit kompensatorischer Hyperfunktion der verbliebenen Neurone, erreicht.

Ebenso weisen Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Blutdruckregulation und Verfügbarkeit von Neurotransmittervorstufen auf eine Beziehung zwischen dem Aktivitätsgrad der entsprechenden Neurone und der Vorstufen-induzierten Neurotransmittersynthese hin. SVED (1979) und CONLAY (1981) stellten einen den Blutdruck normalisierenden Effekt von Tyrosingaben bei Ratten fest.

Bei spontan-hypertensiven Ratten kam es nach intraperitonealer Injektion von 50 - 200 mg/kg L-Tyrosin zu einem Absinken des Blutdrucks (Sved, 1979). Demgegenüber erfolgte bei Ratten, die durch Blutentzug in einen hypovolämischen Schockzustand versetzt worden waren, zu einem Blutdruckanstieg nach Tyrosin-Applikation (CONLAY, 1981). Gleichartige Behandlung normotensiver Ratten führte zu keiner signifikanten Veränderung des Blutdrucks.

WURTMAN (1982) erklärt diese Beobachtungen mit der beschleunigten Entladung bestimmter noradrenerger Neurone im Stammhirn, welche inhibitorische Einflüsse auf präganglionäre Neurone des sympathischen Nervensystems im Rückenmark ausüben. Die dadurch bedingte verringerte Aktivität von Neu-

ronen der sympathischen Ganglien bzw. der chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks führt zu einer Blutdrucksenkung. Bei Hypotension erfolgt eine zentral bedingte Gegenreaktion mit gesteigerter Aktivität des sympatho-adrenalen Systems. In diesem Fall wird durch Tyrosingabe die Katecholaminsynthese und Freisetzung in den aktivierten Zellen dieses Systems erhöht.

ALONSO (1982) verabreichte gesunden Menschen eine einmalige Dosis von 100 -150 mg/kg L-Tyrosin per os. Die Ausscheidung der Katecholamine und deren Metabolite war daraufhin im Harn signifikant erhöht. Er folgert daraus, daß durch die Tyrosin-Applikation die Katecholaminsynthese sowohl in zentralen wie peripheren katecholaminergen Zellen beschleunigt ist.

Gleichsinnige Befunde erhob AGHARANYA (1981), der nach Gabe von 100 mg/kg L-Tyrosin pro Tag bei gesunden Menschen eine Steigerung der Katecholaminausscheidung im Harn um 25% feststellte und dies auf eine erhöhte Sättigung der Tyrosinhydroxylase im sympatho-adrenalen System zurückführt.

Über den Zusammenhang zwischen Tyrosin-Angebot und dem Fortpflanzungsgeschehen liegen bislang nur wenige Untersuchungsergebnisse vor. SVED et al. (1979) stellten bei Reserpinvorbehandelten Ratten nach Tyrosinapplikation ein Absinken des erhöhten Serumprolaktinspiegels fest und diskutieren diesbezüglich eine Freisetzung von Dopamin, dem eine Prolaktinfreisetzung-hemmende Wirkung zugesprochen wird, aus der *Eminentia mediana* des Gehirns.

SCHEUERMANN (1984) überprüfte die Wirkung eines erhöhten Tyrosinangebots in der Nahrung auf das Einsetzen der Pubertät und das Reproduktionsgeschehen bei Ratten. Tyrosinbehandlung führte zu einem früheren Einsetzen der Pubertät, der Hodenabstieg setzte gegenüber Kontrolltieren ca. 2,5 Tage früher ein, bei weiblichen Tieren wurde eine um 5 Tage früher erfolgende Öffnung des Vaginallumens beobachtet und die Wurfgröße war deutlich erhöht.

Aus der dargestellten Literaturübersicht geht hervor, daß die Katecholamine die LH-RH-Neurone zu stimulieren vermögen und andererseits die Aminosäure Tyrosin die Katecholaminsynthese positiv beeinflussen kann.

Aus dieser Tatsache läßt sich die Hypothese ableiten, daß ein erhöhtes Angebot der Aminosäure Tyrosin die Synthese und Freisetzung von Noradrenalin stimuliert. Dabei kann das freigesetzte Noradrenalin eine erhöhte Impulsfrequenz der LH-RH-Neurone bewirken. Der hiervon abgeleitete fruchtbarkeitsfördernde Effekt soll am Beispiel des Rindes untersucht werden.

## MATERIAL UND METHODEN

### 1. Tiermaterial

Die Untersuchung erfolgte an insgesamt 25 Kühen. Hiervon wurden 6 Kühe stationär in der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München gehalten (Tiergruppe A).

19 Kühe aus 9 verschiedenen Betrieben wurden im Rahmen einer, im oberschwäbischen Raum durchgeführten Feldstudie in die Untersuchungen einbezogen (Tiergruppe B).

#### 1.1. Tiergruppe A

Tiergruppe A bestand aus DFV-Kalbinnen, deren Alter bei Versuchsbeginn 3 - 3 1/2 Jahre betrug. Bei sämtlichen Tieren lag eine seit der letzten Geburt anhaltende Azyklie vor (60 - 80 Tage post partum). Die Fütterung bestand aus Heu ad libitum und Kraftfutter (Millikorn der Fa. Zentz, Feldmoching). Die Tiere waren in Anbindehaltung aufgestellt. Die tägliche Milchleistung betrug 12 - 17 l/Tag.

#### 1.2. Tiergruppe B

Bei der Tiergruppe B handelte es sich um Kühe der Rassen Deutsches Fleckvieh, Holstein-Frisian und Rotbunte im Alter zwischen 3 und 8 Jahren, bei denen ebenfalls eine Azyklie (60 - 150 Tage post partum) vorlag. Die Tiere wurden teils in Anbindehaltung und teils im Laufstall gehalten. Die

Fütterung bestand aus Heu ad libitum, Maissilage, Grassilage, Rüben und Kraftfutter, der Milchleistung entsprechend dosiert. Die tägliche Milchleistung lag bei 17 - 41 l/Tag.

## 2. Methodik

### 2.1. Klinische Befunderhebung

Der Funktionszustand der Ovarien wurde durch rektale Untersuchung ermittelt. In einer Reihe von Fällen erfolgte zusätzlich eine Untersuchung der Ovarien durch Ultraschalldiagnostik mit einem Gerät der Firma Linus Fischer Ultrasound.

### 2.2. Tyrosinapplikation

L-Tyrosin reinst wurde von der Fa. Serva bezogen.

1 Tier der Gruppe A erhielt über einen Zeitraum von 4 Tagen L-Tyrosin in einer Dosierung von 4g pro Tag durch intravenöse Infusion einer 2°/oo-Lösung. Als Lösungsmittel diente sterile physiologische Kochsalzlösung.

Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von L-Tyrosin konnten stärker konzentrierte Lösungen zur intravenösen Applikation nicht eingesetzt werden.

Den Tieren der Gruppe B wurde eine einmalige Dosis von 40,0g L-Tyrosin pro Tier und Tag peroral verabreicht. Zur Umgehung der Vormagenflora wurde das Tyrosin als geschütztes Tyrosin, speziell zubereitet von der Fa. Degussa, eingesetzt.

Da die Spontanaufnahme des derartig zubereiteten Tyrosins in der überwiegenden Zahl der Fälle verweigert wurde, erfolgte die Applikation in Form von Gelatinekapseln mittels eines Pilleneingebers.

### 2.3. Ermittlung der Tyrosinkonzentration im Blutserum

#### 2.3.1. Bestimmung des durch Progesteronrebound gebildeten Tyrosinlevels

Zur Ermittlung der endogenen Serum-Tyrosinkonzentration im periovulatorischen Zeitraum wurde 5 unbehandelten Tieren der Gruppe A eine PRID-Spirale (Progesteron-Releasing-Intravaginal-Device) eingesetzt. An 5 aufeinanderfolgenden Tagen nach Entfernung der PRID-Spirale wurde Blut entnommen.

#### 2.3.2. Ermittlung der exogen durch Tyrosinapplikation erzeugten Tyrosinkonzentration

Zur Bestimmung der Tyrosinkonzentration im Blutserum nach Tyrosin-Applikation erfolgte bei einem Tier der Gruppe A in 24-stündigen Abständen Blutentnahmen an 93 aufeinanderfolgenden Tagen. Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der Vena jugularis. Nach Gerinnung des Blutes wurde das Serum in einer Kühlzentrifuge durch 10-minütiges Zentrifugieren bei 7000 G gewonnen. Die Serumproben wurden bei -24°C gelagert.

## 2.4. Tyrosinkonzentrationsbestimmung im Blutserum

### 2.4.1. Benötigte Materialien und Reagenzien

Salpetersäure 2,5 n (Fa. Merck)

Phosphorsäure 25 n, 8n (Fa. Merck)

tetra-Natriumdiphosphat-10-hydrat (Fa. Merck)

Ethanol 95% für Fluoreszenzspektroskopie (Fa. Merck)

1-nitroso-2-naphtol (Fa. Merck)

Natriumnitrit (Fa. Merck)

Natronlauge 0,05 n (Fa. Merck)

Trichloressigsäure 0,6 n, 0,06 n (Fa. Merck)

L-Tyrosin (Fa. Serva)

### 2.4.2. Deproteinisierung des Serums

Zur Deproteinisierung wurde das Serum 1:4 mit Aqua. dest. verdünnt, mit 1 ml 30% Trichloressigsäure versetzt, 10 Minuten geschüttelt und anschließend 15 Minuten bei 15.000 G zentrifugiert. Die Überstände wurden bei -24°C gelagert.

### 2.4.3. Arbeitsdurchführung

0,5 ml deproteinisiertes Serum wurde mit 1 ml Salpetersäure-reagenz gemischt und exakt 6 Minuten im Wasserbad bei 85°C gehalten. Die Mischung wurde 10 Minuten auf 33°C abgekühlt, 5 ml Ethylalkohol dazugegeben, vermischt und in einem Wasserbad 30 Minuten bei 33°C gehalten.

Die Bestimmung der Tyrosinkonzentration erfolgte fluoreszenz-photometrisch mit einem Fluoreszenz-Spektrophotometer der Firma Perkin-Elmer MPF4 bei einer Anregungswellenlänge von 435 nm und einer Emissionswellenlänge von 535 nm nach der von AMBROSE et al. (1969) beschriebenen Methode.

Der exakte Reaktionsmechanismus ist bisher noch nicht geklärt, jedoch scheinen alle Phenolverbindungen mit einer freien Position in ortho-Stellung zur phenolischen Hydroxylgruppe mit Nitrosonaphtol fluoreszierende Verbindungen zu ergeben.

Sämtliche Proben wurden unter identischen Bedingungen untersucht. Die untere Nachweisgrenze für Tyrosin im Serum betrug 0,0015 mg/ml. In der Regel wurden Doppelbestimmungen durchgeführt mit einer Abweichung von weniger als 3%. Bei jeder Untersuchung wurde eine Eichkurve erstellt, damit etwaige Fehlerquellen bei der Arbeitsdurchführung ausgeschlossen werden konnten.

## ERGEBNISSE

### Verlauf des endogenen Serumtyrosinspiegels während des Zyklusgeschehens

Die Abbildungen geben Verlaufskurven der Tyrosinkonzentration von Serumproben eines Rindes wieder. In den Abbildungen 4a - d sind die nach einmaliger i.v. Tyrosinapplikation ( 4,0 g L-Tyrosin/2 l physiologischer Kochsalzlösung an 4 aufeinanderfolgenden Tagen in 24-stündigen Abständen ermittelten Serumtyrosinkonzentrationen einer Kuh dargestellt, die über einen Zeitraum von 60 Tagen post partum azyklisch war.

Den zugehörigen Tabellen 7a-d des Anhangs können die an den einzelnen Tagen ermittelten Tyrosinkonzentrationen in Verbindung mit den an den Ovarien erhobenen Befunden entnommen werden.

6 Tage nach der Applikation zeigte die Kuh Brunsterscheinungen. Mittels rektaler Untersuchung konnte ein Follikel auf dem rechten Ovar festgestellt werden. In den folgenden Monaten wurden 4 regelmäßige Zyklen mit einer Zyklusdauer von 19 - 21 Tagen beobachtet.

Aus den dargestellten Kurven lassen sich die Schwankungen der Tyrosinkonzentration im Verlauf des Zyklusgeschehens ablesen. Auffallend ist ein regelmäßig auftretender Tyrosinanstieg im Proöstrus, mit Maximalwerten von  $160 \text{ mg/ml} \cdot 10^{-4}$  kurz vor Beginn des Östrus, dann ein deutlicher Abfall des endogenen Tyrosinblutspiegels, der nach der Ovulation erfolgt. Während des Diöstrus schwanken die Tyrosinkonzentrationen um einen Mittelwert von  $90 \text{ mg/ml} \cdot 10^{-4}$ .

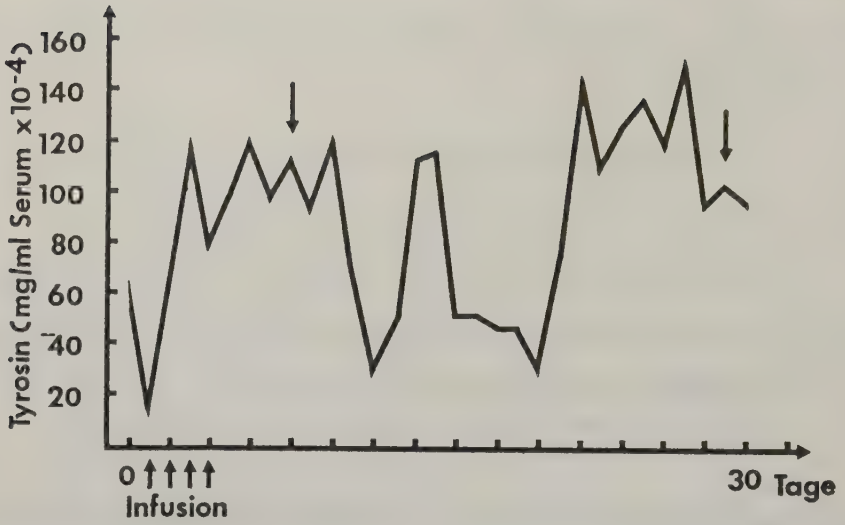


Abb. 4a:

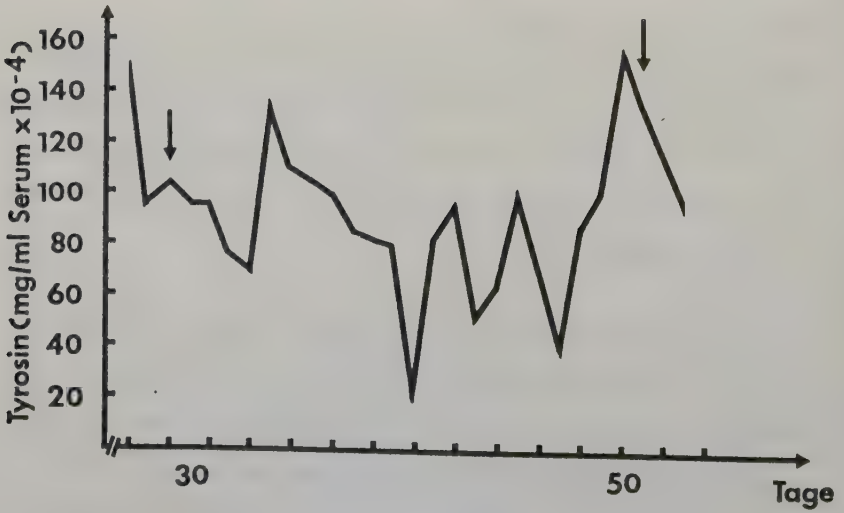


Abb. 4b:

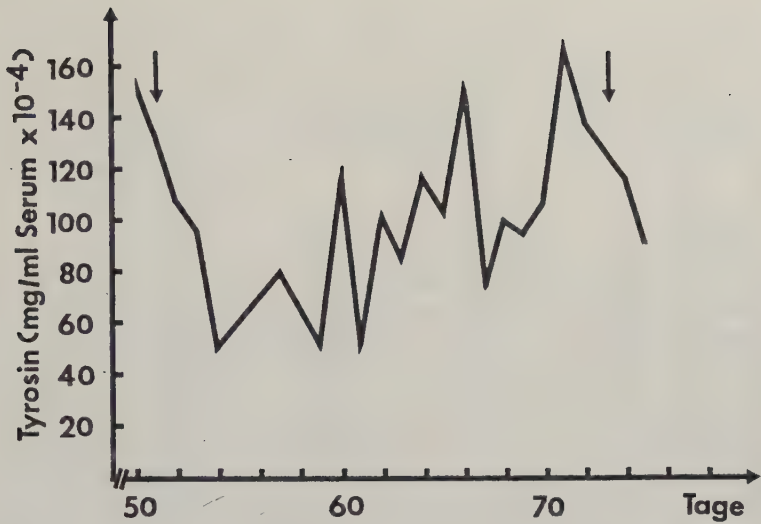


Abb. 4c:

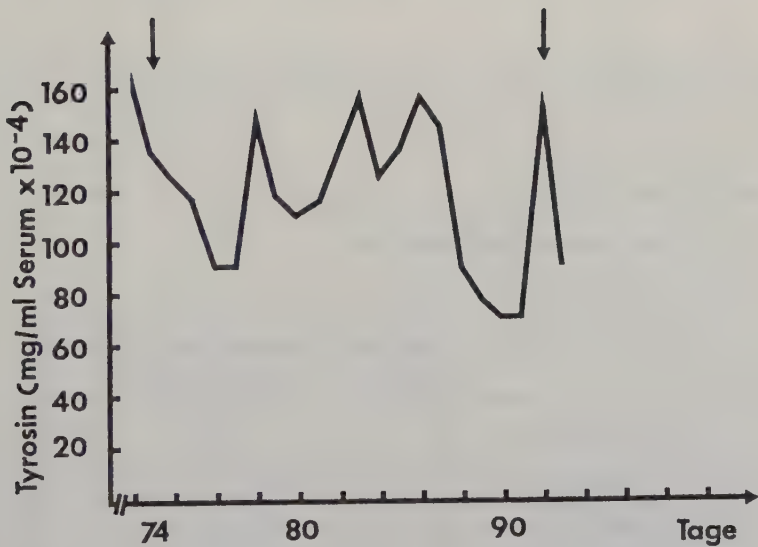


Abb. 4d:

Abb. 4a-d: Langzeitverlauf der Tyrosinkonzentration nach 4maliger i.v. Tyrosinapplikation ( $\uparrow$ ). Auf der Ordinate sind die Tyrosinkonzentrationen, auf der Abszisse die Zeitdauer von 0-93 Tagen dargestellt. Die in der Serumtyrosinverlaufskurve eingetragenen Pfeile ( $\downarrow$ ) bezeichnen den Tag der Ovulation.

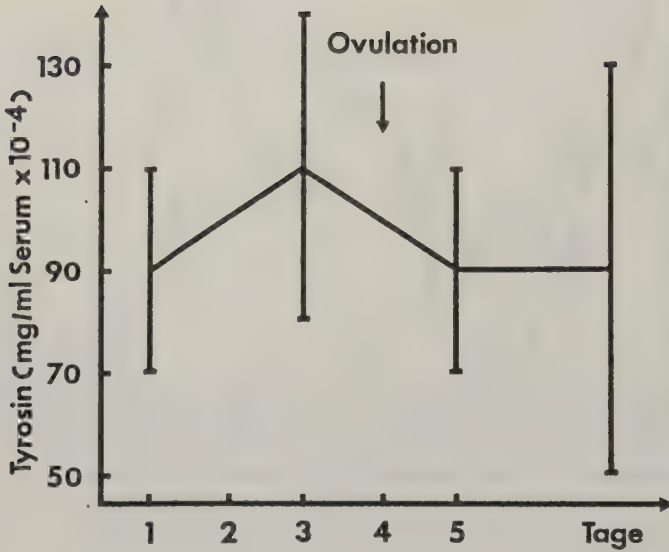


Abb. 5: Mittelwerte der Tyrosinkonzentration im Blutserum aus den in Abbildung 1a-d dargestellten 4 Zyklen der Langzeituntersuchung.

Tab. 1: Mittlere Serumtyrosinkonzentration aus den 4 Zyklen der Langzeituntersuchung

|           | Mittlere Tyrosinkonzentration im Serum ( $\bar{x} \pm s$ ) mg/ml $\times 10^{-4}$ |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Proöstrus | 90 $\pm$ 20                                                                       |
| Östrus    | 110 $\pm$ 30                                                                      |
| Metöstrus | 90 $\pm$ 20                                                                       |
| Diöstrus  | 90 $\pm$ 40                                                                       |

In den Abbildungen 6 - 11 wird der Verlauf der endogenen Tyrosinkonzentration von 5 verschiedenen Kühen dargestellt, bei denen zur Zyklusinduktion eine PRID-Spirale intravaginal appliziert wurde.

In den Tagen vor der Ovulation kommt es bei allen Kühen zu einem fortgesetzten Anstieg der Serumtyrosinkonzentration mit Maximalwerten 12 - 48 Stunden vor der Ovulation, dem während und an den darauffolgenden Tagen nach der Ovulation ein ausgeprägter Abfall folgt. Abbildung 8 stellt die Mittelwerte ( $\bar{x} \pm s$ ) der in den Abbildungen 3 - 7 ermittelten Serumtyrosinkonzentrationsverläufe dar.

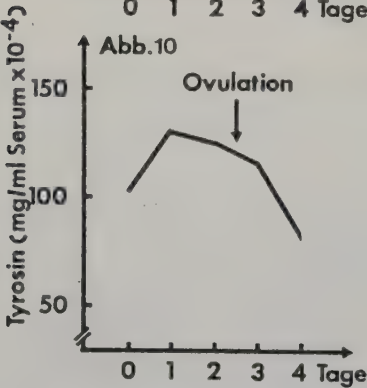
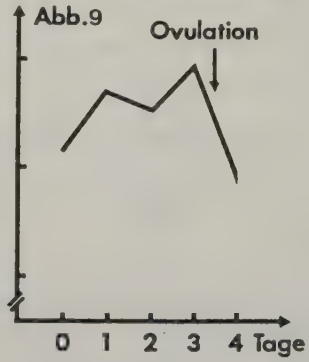
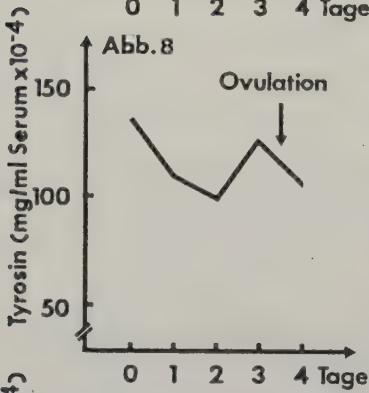
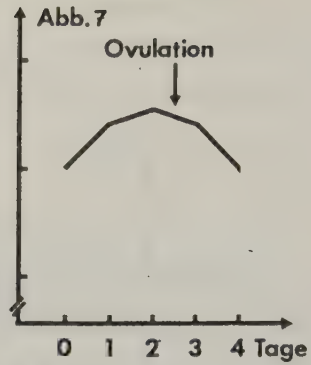
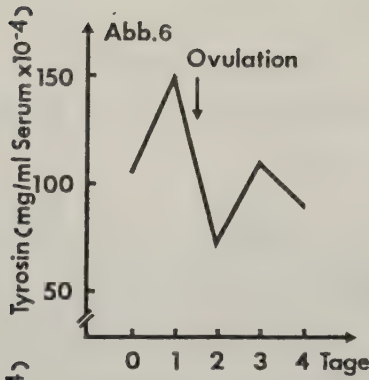


Abb.6-10: Verlauf der endogenen Tyrosinkonzentration bei 5 Kühen nach Entfernung einer PRID-Spirale.

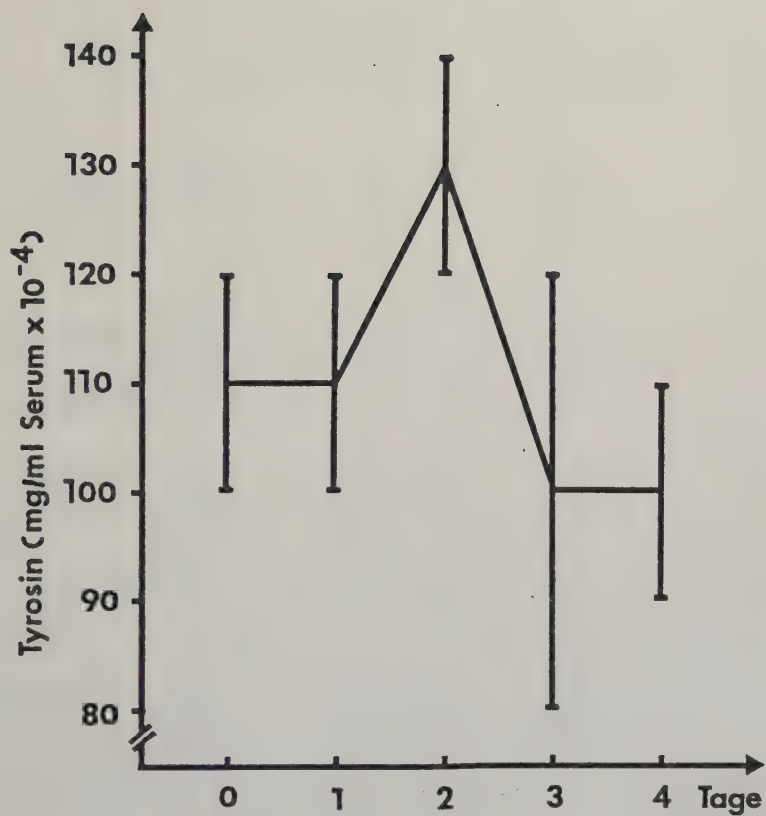


Abb. 11: Mittelwerte ( $\bar{x} \pm s$ ) der Tyrosinkonzentrationen aus Abb. 6-10.

Tab. 3: Einzelwerte der Tyrosinkonzentration sowie an den Ovarien erhobene Befunde von 5 verschiedenen Kühen nach Entfernung einer PRID-Spirale.

| Tag          | Fluoreszenzwert | Tyrosingehalt<br>(mg/ml $\times 10^{-4}$ ) | Ovarialbefunde        |
|--------------|-----------------|--------------------------------------------|-----------------------|
| <u>Kuh 1</u> |                 |                                            |                       |
| 0            | 12,0            | 105                                        | O.F.G.                |
| 1            | 17,0            | 150                                        | Follikel              |
| 2            | 8,5             | 72,5                                       | Ovulationsgrube       |
| 3            | 12,5            | 110                                        | C.l. in Anbildung     |
| 4            | 10,5            | 90                                         | C.l. in Anbildung     |
| <u>Kuh 2</u> |                 |                                            |                       |
| 0            | 15,0            | 100                                        | O.F.G.                |
| 1            | 18,0            | 120                                        | Follikel in Anbildung |
| 2            | 19,0            | 127,5                                      | Follikel              |
| 3            | 18,0            | 120                                        | Ovulationsgrube       |
| 4            | 15,0            | 100                                        | C.l. in Anbildung     |
| <u>Kuh 3</u> |                 |                                            |                       |
| 0            | 20,0            | 137,5                                      | O.F.G.                |
| 1            | 16,5            | 110                                        | Follikel in Anbildung |
| 2            | 15,0            | 100                                        | Follikel              |
| 3            | 19,0            | 127,5                                      | Follikel              |
| 4            | 16,0            | 107,5                                      | Ovulationsgrube       |
| 5            | -               | -                                          | C.l. in Anbildung     |
| <u>Kuh 4</u> |                 |                                            |                       |
| 0            | 16,0            | 100                                        | O.F.G.                |
| 1            | 20,0            | 120                                        | Follikel in Anbildung |
| 2            | 19,0            | 127,5                                      | Follikel              |
| 3            | 22,0            | 120                                        | Follikel              |
| 4            | 14,5            | 100                                        | Ovulationsgrube       |
| <u>Kuh 5</u> |                 |                                            |                       |
| 0            | 15,5            | 102,5                                      | O.F.G.                |
| 1            | 20,0            | 130                                        | Follikel              |
| 2            | 19,0            | 127,5                                      | Follikel              |
| 3            | 17,5            | 117,5                                      | Ovulationsgrube       |
| 4            | 13,5            | 83                                         | C.l. in Anbildung     |

Tab. 4: Mittlere Serumtyrosinkonzentration von 5 Kühen nach Entfernung einer PRID-Spirale.

| Tage |           | Mittlere Tyrosinkonzentration<br>im Serum ( $\bar{x} \pm s$ ) mg/ml $\times 10^{-4}$ |
|------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Proöstrus | 110 $\pm$ 10                                                                         |
| 1    |           | 110 $\pm$ 10                                                                         |
| 2    | Östrus    | 130 $\pm$ 10                                                                         |
| 3    |           | 100 $\pm$ 20                                                                         |
| 4    | Metöstrus | 100 $\pm$ 10                                                                         |

### Feldstudie

Im Rahmen einer Feldstudie erhielten 19 Kühe, bei denen eine 60 - 150 Tage post partum andauernde Azyklie diagnostiziert worden war, eine einmalige Gabe von 40,0 g L-Tyrosin per os. 3 bzw. 4 Tage nach der Tyrosinapplikation wurde bei sämtlichen Tieren mittels rektaler Untersuchung der Funktionszustand der Ovarien überprüft und 17 der 19 ovariellen Funktionsgebilde waren als Follikel anzusprechen. 12 Tiere ließen deutliche äußere Brunstsymptome erkennen, bei 6 Tieren waren sie schwach ausgeprägt. Bei einem Tier konnten keine äußeren Brunstsymptome festgestellt werden. Bei diesem Tier wurde bei einer am 5. Tag nach Tyrosingabe durchgeführten Untersuchung der Ovarien die Rückbildung eines am dritten Tag diagnostizierten kleineren Follikels festgestellt. Außerdem wurde bei einem weiteren Tier die Ausbildung einer kleinen dickwandigen Follikelzyste ermittelt.

Von den 17 Tieren wurden 13 Tiere künstlich besamt und 4 Tiere von einem Bullen gedeckt. 6 Wochen nach der Besamung bzw. dem Belegen wurde bei 11 Tieren eine Trächtigkeit festgestellt.

4 Tiere haben 21 Tage nach der 1. Besamung nachgerindert. Sie zeigten deutliche Brunstsymptome und wurden besamt. 2 Kühe wurden als nicht trächtig befunden und haben auch nicht nachgerindert.

Tab. 5 : Zyklus und Reproduktionsgeschehen bei azyklischen  
Kühen p.p. nach einmaliger peroraler Gabe von 40,0g  
L-Tyrosin

| vor Behandlung |               |                                                | Behandlung              | 3. - 4. Tag nach Behandlung |        |                      |                   |                          |
|----------------|---------------|------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------|----------------------|-------------------|--------------------------|
| Kuh Nr.        | Alter (Jahre) | Ovarbef. (60.-150. Tg.p.p.)                    | 40,0g L-Tyros. p.o.     | Ovarbefunde re.Ov.          | li.Ov. | Brunst-erscheinungen | Besamung /Belegen | Trächtigkeit n. 6 Wochen |
| 1              | 3             | ohne Funktionsgebilde 60.-150. Tag post partum | 40,0 g L-Tyrosin per os | B(1)                        | -      | +++                  | b                 | +                        |
| 2              | 4             |                                                |                         | B(1,5)                      | -      | ++                   | d                 | -                        |
| 3              | 5             |                                                |                         | B(0,5)                      | -      | -                    | -                 | -                        |
| 4              | 4             |                                                |                         | -                           | B(1)   | ++                   | b                 | +                        |
| 5              | 5             |                                                |                         | B(0,5)                      | -      | +                    | b                 | +                        |
| 6              | 3             |                                                |                         | B(1,5)                      | -      | ++                   | b                 | +                        |
| 7              | 8,5           |                                                |                         | B(1)                        | -      | +                    | d                 | -                        |
| 8              | 3             |                                                |                         | B(1,5)                      | -      | +                    | d                 | +                        |
| 9              | 8             |                                                |                         | B(1,5)                      | -      | +                    | d                 | +                        |
| 10             | 2,5           |                                                |                         | -                           | B(1)   | +                    | b                 | -n                       |
| 11             | 4,5           |                                                |                         | B(1)                        | -      | +                    | b                 | -n                       |
| 12             | 3             |                                                |                         | -                           | B(1,5) | +                    | b                 | +                        |
| 13             | 3             |                                                |                         | -                           | B(1)   | ++                   | b                 | -                        |
| 14             | 3             |                                                |                         | -                           | B(1,5) | ++                   | b                 | +                        |
| 15             | 8             |                                                |                         | -                           | B(1,0) | ++                   | b                 | -n                       |
| 16             | 5             |                                                |                         | B(1)                        | -      | +                    | -                 | -n                       |
| 17             | 6             |                                                |                         | -                           | B(1)   | +                    | b                 | +                        |
| 18             | 3             |                                                |                         | B(0,5)                      | -      | +                    | b                 | +                        |
| 19             | 4             |                                                |                         | -                           | B(0,5) | +                    | b                 | +                        |

Zeichenerklärung: B = Blase (Ø)

b = besamt

d = mit Stier gedeckt

n = nachgerindert.

Tab. 6 : Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Feldstudie

|               | Tierzahl | Applikation von<br>40,0 g L-Tyro-<br>sin per os | Brunst-<br>symptome | Rektaler Untersuchungsbef.   |           | Trächtigkeit |                               |
|---------------|----------|-------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|-----------|--------------|-------------------------------|
|               |          |                                                 |                     | Funkt.geb.d.<br>Ovar.n.3 Ig. | Ovulation | 1.Bes.       | 2.Bes. insge-<br>n.21Tg, samt |
| Tierzahl<br>n | 19       | 19                                              | 18*                 | 19                           | 17        | 11           | 4 15                          |
| (%)           | 100%     | 100%                                            | 94,7%               | 100%                         | 89,5%     | 57,9%        | 21% 78,5%                     |

\* Kuh zeigte Brunstsymptome und ließ sich decken; bei rektaler Untersuchung wurde eine Zyste festgestellt.

Anhang:

Tab. 7a-d: Einzelwerte der Tyrosinkonzentration nach 4-maliger i.v. Tyrosinapplikation in Verbindung mit an den Ovarien erhobenen Befunden.

Tab. 7a:

| Tage | Fluoreszenzwert | Tyrosingehalt<br>(mg/mlx10 <sup>-4</sup> ) | Ovarbefunde           |
|------|-----------------|--------------------------------------------|-----------------------|
| 0    | 8,5             | 65                                         | O.F.G.                |
| 1    | 1,5             | 15                                         |                       |
| 2    | 9,0             | 68                                         | O.F.G.                |
| 3    | 16,5            | 120                                        |                       |
| 4    | 10,5            | 78                                         |                       |
| 5    | 13,0            | 90                                         | Follikel in Anbildung |
| 6    | 16,5            | 120                                        |                       |
| 7    | 13,0            | 98                                         | Follikel              |
| 8    | 15,0            | 112                                        | Follikel              |
| 9    | 12,5            | 93                                         | O.F.G.                |
| 10   | 16,5            | 120                                        | C.1. in Anbildung     |
| 11   | 9,5             | 70                                         |                       |
| 12   | 3,5             | 28                                         | C.1. in Anbildung     |
| 13   | 6,5             | 50                                         |                       |
| 14   | 15,0            | 112                                        | C.1.                  |
| 15   | 16,0            | 115                                        |                       |
| 16   | 6,5             | 50                                         | C.1.                  |
| 17   | 6,5             | 50                                         |                       |
| 18   | 6,0             | 45                                         |                       |
| 19   | 6,0             | 45                                         | C.1. in Hochblüte     |
| 20   | 4,5             | 30                                         |                       |
| 21   | 10,0            | 75                                         | C.1.                  |
| 22   | 21,0            | 142,5                                      |                       |
| 23   | 16,5            | 110                                        |                       |
| 24   | 18,5            | 125                                        | C.1. in Rückbildung   |
| 25   | 20,0            | 135                                        |                       |
| 26   | 17,5            | 117,5                                      | Follikel in Anbildung |
| 27   | 22,5            | 150                                        |                       |
| 28   | 14,0            | 95                                         |                       |
| 29   | 15,5            | 102,5                                      | Follikel              |
| 30   | 14,0            | 95                                         | O.F.G.                |

Tab. 7b:

| Tage | Fluoreszenzwert | Tyrosingehalt<br>(mg/mlx10 <sup>-4</sup> ) | Ovarbefunde           |
|------|-----------------|--------------------------------------------|-----------------------|
| 27   | 22,5            | 150                                        |                       |
| 28   | 14,0            | 95                                         |                       |
| 29   | 15,5            | 102,5                                      | Follikel              |
| 30   | 14,0            | 95                                         | O.F.G.                |
| 31   | 14,0            | 95                                         | C.1. in Anbildung     |
| 32   | 11,5            | 77,5                                       |                       |
| 33   | 10,5            | 70                                         | C.1. in Anbildung     |
| 34   | 19,5            | 132,5                                      |                       |
| 35   | 16,5            | 110                                        | C.1.                  |
| 36   | 16,0            | 107,5                                      |                       |
| 37   | 15,0            | 100                                        | C.1.                  |
| 38   | 13,0            | 87,5                                       |                       |
| 39   | 12,5            | 82,5                                       | C.1. in Hochblüte     |
| 40   | 12,0            | 80                                         |                       |
| 41   | 3,5             | 22,5                                       |                       |
| 42   | 12,5            | 82,5                                       | C.1.                  |
| 43   | 14,0            | 95                                         |                       |
| 44   | 7,5             | 50                                         |                       |
| 45   | 9,5             | 62,5                                       | C.1. in Rückbildung   |
| 46   | 15,5            | 102,5                                      |                       |
| 47   | 10,5            | 70                                         | Follikel in Anbildung |
| 48   | 6,0             | 40                                         |                       |
| 49   | 13,0            | 87,5                                       |                       |
| 50   | 15,0            | 100                                        | Follikel              |
| 51   | 23,5            | 157,5                                      | O.F.                  |
| 52   | 20,0            | 135                                        | C.1. in Anbildung     |
| 53   | 17,5            | 117,5                                      |                       |
| 54   | 14,5            | 97,5                                       |                       |

Tab. 7c:

| Tage | Fluoreszenzwert | Tyrosingehalt<br>(mg/mlx10 <sup>-4</sup> ) | Ovarbefunde           |
|------|-----------------|--------------------------------------------|-----------------------|
| 51   | 23,5            | 157,5                                      | O.F.G.                |
| 52   | 20,0            | 135                                        | C.1. in Anbildung     |
| 53   | 17,5            | 117,5                                      |                       |
| 54   | 14,5            | 97,5                                       |                       |
| 55   | 7,5             | 50                                         | C.1.                  |
| 56   | 9,0             | 60                                         |                       |
| 57   | 11,0            | 72,5                                       |                       |
| 58   | 12,0            | 80                                         | C.1.                  |
| 59   | 10,0            | 67,5                                       |                       |
| 60   | 7,5             | 50                                         |                       |
| 61   | 17,5            | 117,5                                      | C.1. in Hochblüte     |
| 62   | 7,5             | 50                                         |                       |
| 63   | 15,0            | 100                                        |                       |
| 64   | 12,5            | 82,5                                       |                       |
| 65   | 17,0            | 115                                        | C.1. in Rückbildung   |
| 66   | 15,5            | 102,5                                      |                       |
| 67   | 22,5            | 152,5                                      |                       |
| 68   | 10,5            | 70                                         |                       |
| 69   | 15,0            | 100                                        | Follikel in Anbildung |
| 70   | 14,0            | 95                                         |                       |
| 71   | 16,0            | 107,5                                      |                       |
| 72   | 25,0            | 167,5                                      | Follikel              |
| 73   | 20,5            | 137,5                                      | O.F.G.                |
| 74   | 18,5            | 125                                        | C.1. in Anbildung     |
| 75   | 17,5            | 117,5                                      |                       |
| 76   | 13,5            | 90                                         |                       |

Tab. 7d:

| Tage | Fluoreszenzwert | Tyrosingehalt<br>(mg/mlx10 <sup>4</sup> ) | Ovarbefund            |
|------|-----------------|-------------------------------------------|-----------------------|
| 72   | 25,0            | 167,5                                     | Follikel              |
| 73   | 20,5            | 137,5                                     | O.F.G.                |
| 74   | 18,5            | 125                                       | C.1. in Anbildung     |
| 75   | 17,5            | 117,5                                     |                       |
| 76   | 13,5            | 90                                        | C.1. in Anbildung     |
| 77   | 13,5            | 90                                        |                       |
| 78   | 22,5            | 152,5                                     | C.1.                  |
| 79   | 17,5            | 117,5                                     |                       |
| 80   | 16,5            | 110                                       | C.1.                  |
| 21   | 17,0            | 115                                       |                       |
| 82   | 20,0            | 135                                       | C.1. in Hochblüte     |
| 83   | 23,5            | 157,5                                     |                       |
| 84   | 19,0            | 127,5                                     |                       |
| 85   | 20,0            | 135                                       |                       |
| 86   | 23,5            | 157,5                                     | C.1. in Rückbildung   |
| 87   | 21,5            | 145                                       |                       |
| 88   | 13,5            | 90                                        |                       |
| 89   | 11,5            | 77,5                                      | Follikel in Anbildung |
| 90   | 10,5            | 70                                        |                       |
| 91   | 10,5            | 70                                        |                       |
| 92   | 23,0            | 155                                       | Follikel              |
| 93   | 13,5            | 90                                        | O.F.G.                |
| 94   | 5,5             | 85                                        |                       |
| 95   | 6,0             | 92,5                                      |                       |

## DISKUSSION

Ziel und Zweck der vorliegenden Untersuchung war es, einen Einfluß von Tyrosin auf das Reproduktionsgeschehen beim Rind zu überprüfen.

Im Rahmen einer Langzeitstudie wurde nach 4maliger Tyrosinapplikation von je 4,0 g bei einem azyklischen Rind ein Wiedereinsetzen des Zyklus beobachtet. Im weiteren Untersuchungszeitraum konnten 4 regelmäßige Zyklen ermittelt werden. Es wurden während dieser Zeit in 24stündigen Abständen die Serumtyrosinkonzentrationen gemessen und jeweils kurz vor der Ovulation konnte ein Anstieg der Tyrosinkonzentration festgestellt werden, dem ein deutlicher Abfall nach der Ovulation folgte.

Die mittleren Serum-Tyrosinkonzentrationen im Proöstrus, Metöstrus und Diöstrus lagen bei  $90 \text{ mg/ml} \times 10^{-4} \text{ L-Tyrosin}$ , in der Zeit des Östrus stiegen sie auf  $110 \text{ mg/ml} \times 10^{-4} \text{ L-Tyrosin}$ . Die Werte im Diöstrus wiesen starke Schwankungen auf.

Um diese Ergebnisse zu untermauern, wurde mit Hilfe einer PRID-Spirale bei 5 weiteren azyklischen Kühen durch Rebound-Effekt ein Östrus induziert. 5 Tage lang nach der Entfernung wurde der Tyrosinblutspiegel gemessen. Der bei den 5 Tieren festgestellte Verlauf der Serumtyrosinkonzentration entsprach weitgehend dem der Langzeitstudie.

Die mittleren Gehalte lagen hier im Proöstrus bei  $110 \text{ mg/ml} \times 10^{-4}$ , stiegen in der Östrusphase auf  $130 \text{ mg/ml} \times 10^{-4}$  und pendelten sich im Metöstrus und Diöstrus bei  $100 \text{ mg/ml} \times 10^{-4}$  L-Tyrosin ein. Somit ergeben sich Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Tyrosinkonzentration und den einzelnen Zyklusstadien.

In der praeovulatorischen Phase scheint ein erhöhter Bedarf an freiem Tyrosin zu bestehen, der seinen Ausdruck in gesteigerten Serumtyrosinkonzentrationen findet. Der Abfall der Tyrosinkonzentrationen im Serum könnte zumindest teilweise damit erklärt werden, daß zwischen Proöstrus und Östrusphase vermehrt freies Tyrosin aus der Blutbahn zur Katecholaminbiosynthese herangezogen wird.

Im Rahmen einer Feldstudie konnte festgestellt werden, daß nach einer einmaligen peroralen Applikation von  $40,0 \text{ g}$  L-Tyrosin/Tier bei azyklischen Rindern ( $60 - 150$  Tage post partum) in 15 von 19 Fällen wieder ein physiologisches Zyklusgeschehen einsetzte.

Bei 11 der 19 behandelten Tiere konnte nach 6 Wochen eine Trächtigkeit mittels rektaler Untersuchung festgestellt werden. 4 Tiere haben 21 Tage nach dem letzten möglicherweise durch Tyrosingabe induzierten Östrus nachgerindert. Die Non-Return-Rate von 58% wich damit nicht wesentlich von dem üblicherweise zu erwartenden Prozentsatz ab.

Bei 2 Tieren, die beide aus demselben Betrieb stammen, hat sich in einem Fall eine Zyste gebildet und im anderen Fall ist der Follikel atresiert. Beide Tiere der Rasse Holstein-Frisian sind Hochleistungstiere, wobei eine Kuh 39,5 l/Tag und die andere 41,0 l/Tag Milchleistung erbringt. Möglicherweise war bei diesen Tieren die Dosierung von Tyrosin zu gering um einen Impuls auszulösen.

Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von Tyrosin, sowie der Notwendigkeit, die Vormagenflora des Rindes zu umgehen, ergeben sich für die Applikation Schwierigkeiten. Das Löslichkeitsmaximum von Tyrosin beträgt nach Angaben von RAE (1984) 7 g/l bei 39°C und nach eigenen Beobachtungen lediglich 2g/l physiologischer Kochsalzlösung. Somit sind einer i.v. Applikation Grenzen gesetzt.

Der Versuch, das Tyrosin durch eine Fettsäurebeschichtung vor Einflüssen durch die Vormagenflora zu schützen, erzielte nicht den gewünschten Erfolg. Nahezu sämtliche Tiere verweigerten die Aufnahme des mit dem so vorbehandelten Tyrosin vermischten Futters. Möglicherweise war die Verweigerung des Fettsäure-behandelten Tyrosins bedingt durch die mit deutlich organoleptischen Abweichungen einhergehenden oxidativen Veränderungen der eingesetzten Fettsäuren.

Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Feldstudie die Tyrosinapplikation mittels Pilleneingeber in Form von 3-4 großen Gelatine kapseln gewählt. Hierdurch war eine vollständige Aufnahme der eingesetzten Tyrosinmenge gewährleistet.

Das Ergebnis der Feldstudie läßt einen regulativen Einfluß von Tyrosin auf die neuroendokrine Steuerung des Zyklusgeschehens vermuten.

Dieser Tyrosineffekt scheint insbesondere beim Vorliegen neurohormonaler Fruchtbarkeitsstörungen in Erscheinung zu treten. Ergebnisse von SVED (1979) und CONLAY (1981) deuten auf eine ähnliche regulative Beeinflussung der Blutdrucksteuerung durch Tyrosingaben hin. So beobachteten die genannten Autoren sowohl bei hypertensiven wie auch hypotensiven Ratten eine Normalisierung des Blutdrucks nach Tyrosingaben, während der Blutdruck normotensiver Ratten unbeeinflußt blieb.

In gleichsinniger Weise interpretierten GROWDON (1979) und MELAMED (1980) die durch Tyrosingabe bedingte erhöhte Aktivität intakter nigrostriataler Neuronen bei experimentell induziertem, partiellen Ausfall dieser Nervenzellen. In diesem Zusammenhang wird von den beiden Autoren ein möglicher therapeutischer Einsatz von Tyrosin bei der Parkinsonschen Krankheit des Menschen diskutiert.

Aus den Ergebnissen, die der therapeutische Einsatz von Tyrosin sowohl beim Blutdruckgeschehen als auch bei der Parkinsonschen Krankheit offenlegt, kann im Hinblick auf das Reproduktionsgeschehen des Rindes eine gewisse Parallelität festgestellt werden. Offensichtlich führt die Gabe von Tyrosin über die Synthese via Katecholamine zur Optimierung der Impulsfrequenz der noradrenergen- bzw. GnRH-Neurone.

Durch vermehrte Neurotransmittersynthese, induziert durch Tyrosinapplikation, scheint eine möglicherweise unterschwellige Reizleitung in eine intakte transformierbar zu sein. Somit ist das Zustandekommen eines normalen Zyklusgeschehens zu erwarten.

Die Ergebnisse geben Anhaltspunkte für die Richtigkeit der eingangs postulierten Hypothese einer durch Tyrosinapplikation induzierbaren positiven Beeinflussung des Fruchtbarkeitsgeschehens des Rindes.

## ZUSAMMENFASSUNG

An insgesamt 25 azyklischen Rindern wurde der Einfluß der Aminosäure Tyrosin auf das Fruchtbarkeitsgeschehen untersucht.

An 6 Tieren wurde im Rahmen einer klinischen Untersuchung die Tyrosinkonzentration im Blutserum ermittelt. Bei diesen Tieren kam es in den Tagen vor der Ovulation zu einem kontinuierlichen Anstieg der Serumtyrosinkonzentration und an den darauffolgenden Tagen nach der Ovulation zu einem deutlichen Abfall.

Im Rahmen einer Feldstudie erhielten 19 azyklische Kühe eine einmalige Dosis von 40,0 g L-Tyrosin per os. Bei allen Tieren bildete sich 3 Tage danach ein Funktionsgebilde am Ovar aus. In 17 Fällen stellte sich die Blase als sprungreifer Follikel heraus. Die Kühe zeigten mehr oder weniger deutliche Brunstsymptome. Diese Tiere wurden besamt bzw. mit einem Bullen gedeckt.

11 Tiere wurden 6 Wochen nach der Besamung/Decken als trächtig befunden. 4 Tiere haben innerhalb von 3 Wochen nach der 1. Besamung nachgerindert. Bei 2 Tieren konnte keine Trächtigkeit festgestellt werden.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß die einmalige Gabe von Tyrosin bei Kühen neurohormonale Störungen des Zyklus beeinflussen kann.

## SUMMARY

### Influence of the Amino Acid Tyrosine on the Reproductive Function of the Cow

The influence of the amino acid tyrosine on the reproductive function was examined in a total of 25 acyclic cows.

In a following clinical study, blood serum tyrosine concentrations were determined in 6 animals. The results showed a continuously rising of blood serum tyrosine levels in all animals in the days prior to the ovulation. A marked reduction in tyrosine levels followed during and after ovulation.

In a field study 19 acyclic cows were each given a single dose of 40.0 gm L-tyrosine per os. All thus treated animals showed some functional object in the ovary three days afterwards. In 17 cases these objects proved to be ripe follicles and the animals showed heat to varying degrees. They were then artificially inseminated or were covered by a bull.

11 animals were found pregnant 6 weeks thereafter. 4 animals went in heat 3 weeks after the insemination. No pregnancy diagnosis could be made in 2 animals.

The results indicate, that a single dose of tyrosine in a cow may have an influence on neurohormonal disturbances of the cycle.

LITERATURVERZEICHNIS

- AGHARANYA, J.C., R. ALONSO und R.J. WURTMAN (1981): Changes  
in catecholamines excretion after shortterm  
tyrosine ingestion in normally fed human subjects.  
Amer. J. clin. Nutrit. 34, 82-87
- ALONSO, R., C.J. GIBSON und R.J. WURTMAN (1982): Elevation  
of urinary catecholamines and their metabolites  
following tyrosine administration in humans.  
Biol. Psychiat. 17, 781-790
- AMBROSE, J.A., P. SULLIVAN, A. INGERSON und R.L. BROWN (1969)  
Fluorometric determination of tyrosine.  
J. clin. chem. 15, 611-620
- BLOOM, F.E. (1981): Neuropeptide - Botenstoffe in Gehirn  
und Körper.  
aus: Scientific American 10/81 in: Spektrum  
der Wissenschaft 12/81, 72-83
- CARLSSON, A. und M. LINDQVIST (1978): Dependence of 5-HT  
and catecholamine synthesis on precursor amino-  
acid Levels in rat brain.  
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 303,  
157-164
- CONLAY, L.A., T.J. MAHER und R. J. WURTMAN (1981): Tyrosine  
increases blood pressure in hypotensive rats.  
Sci. 212, 559-560

- FERNSTORM, J.D. und R.J. WURTMAN (1972): Brain serotonin content: Physiological regulation by plasma neutral amino acids.  
Sci. 178, 414-416
- FUXE, K., A. LOFTROM, P. ENEROTH, J.A. GUSTAFSSON, T. HOKFELT, P. SCETT, W. WUTTKE, H. FRASER und S. JEFFCOATE (1976): Interactions between hypothalamic catecholamine nerve terminals and LRF containing neurons. Further evidence for an inhibitory dopaminergic and a facilitory noradrenergic influence.  
Excerpta Medica Int. Congress Series 374
- GAL, E.M., I.C. ARMSTRONG und B. GINSBERG (1966): The nature of in vitro hydroxylation of L-Tryptophan by brain tissue.  
J. Neurochem 13, 643-654
- GIBSON, C.J. und R.J. WURTMAN (1977): Physiological control of brain catechol synthesis by brain tyrosine concentration.  
Biochem. Pharmacol. 26, 1137-1142
- GIBSON, C.J. und R.J. WURTMAN (1978): Physiological control of brain norepinephrine synthesis by brain tyrosine concentration.  
Life Sci. 22, 1399-1406

GROWDON, J.H. (1979): Neurotransmitter precursors in the diet: Their use in the treatment of brain diseases.

In: WURTMAN, R.J. und J.J. WURTMAN (eds.), Nutrition and brain, Vol. 3, Raven Press, New York

HOKFELT, T. und K. FUXE (1972): On the morphology and the neuroendocrine role of the hypothalamic catecholamine neurons.

In: KNIGGE, K.M., D.E. SCOTT und A. WEINDL (Hrsg.), Brain endocrine interaction median eminence: Structure and Function, S. 181-223, Karger Verlag, Basel

IKEDA, M., M. LEVITT und S. UDENFRIEND (1965): Hydroxylation of phenylalanine by purified preparations of adrenal and brain hydroxylase:

Biochem. Biophys. Res. Comm. 18, 482-488

KALRA, S.P. (1985): Catecholamine involvement in preovulatory LH release: Reassessment of the role of epinephrine.

Neuroendocrinology 40, 139-144

KAMBERI, I.A., H.P.G. SCHNEIDER und S.M. McCANN (1970):

Action of dopamine to induce release of FSH-releasing factor (FRF) from hypothalamic tissue in vitro.

Endocrinology 86, 278-284

- Mc KINNON, P., C. CLARK, E.M. CLEMENT und R. SHEAVES (1985):  
Changes in concentrations and rate of decline  
of adrenalin in the medial preoptic area and  
the mediobasal hypothalamus of acutely ovariec-  
tomized steroid-treated rats.  
j. Endocrin. 104, 129-135
- LOVENBERG; W. und S.J. VICTOR (1974): Regulation of tryptophan  
and tyrosine hydroxylase.  
Life Sciences 14, 2337-2353
- MELAMED, E., F. HEFTI und R.J. WURTMAN (1980): Tyrosine  
administration increases striatal dopamine  
release in rats with partial nigrostriatal  
lesions.  
Proc. Nat. Acad. Sci. 77, 4305-4309
- McMENAMY, R.H. und J.L. ONCLEY (1978): The specific binding  
of L-tryptophan to serum albumin.  
J. Biol. Chem. 233, 1436-1447
- NAGATSU, T., M. LEVITT und S. UDENFRIEND (1964): Tyrosine  
hydroxylase: The initial step of norepinephrine  
biosynthesis.  
J. Biol. Chem. 239, 2910-2917
- PARDRIDGE, W.M. (1979): Regulation of amino acid availability  
of the brain.  
In: WURTMAN, R.J. und J.J. WURTMAN (eds.),  
Nutrition and the brain, Vol. 1, Raven Press,  
New York

- RAE, R.C. und J.R. INGALLS (1984): Lactational response of dairy cows to oral administration of L-tyrosin.  
J. Dairy Sci. 67, 1430-1438
- SAWYER, C.H., J. HILLIARD, S. KANEMATSU, S. SCARAMUZZI und C.A. BLAKE (1974): Effects of intraventricular infusions of norepinephrine and dopamine on LH-release and ovulation in the rabbit.  
Neuroendocrinology 15, 328-337
- SCALLY, M.C., I.H. ULUS und R.J. WURTMAN (1977): Brain tyrosine levels controls striatal dopamine in haloperidol-treated rats.  
J. Neural Transm. 43, 103
- SCHEUERMANN, R. (1984): Zur Bedeutung der Aminosäure Tyrosin im Reproduktionsgeschehen der Ratte.  
Díss. med. vet., München
- SCHNEIDER, H.P.G. und S.M. McCANN (1970): Mono- and indolamines and control of LH-secretion.  
Endocrinology 86, 1127-1133
- SCHNEIDER; H.P.G. und S.M. McCANN (1970): Release of LH-releasing factor (LRF) into the peripheral circulation of hypophysectomized rats by dopamine and its blockade by estradiol.  
Endocrinology 87, 249-253

SVED, A.F., J.D. FERNSTORM und R.J. WURTMAN (1979): Tyrosine administration decreases serum prolactin levels in chronically reserpinized rats.

Life Sci. 25, 1293-1300

SVED, A.F., J.D. FERNSTORM, R.J. WURTMAN (1979): Tyrosine administration reduces blood pressure and enhances brain norepinephrine release in spontaneously hypertensive rats.

Proc. Nat. Acad. Sci. 76, 3511-3514

UDENFRIEND, S. (1966): Tyrosine Hydroxylase.

Pharmacol Rev. 18, 43-51

VIJAYAN, R. und S.M. McCANN (1980): Effect of blockade of dopaminergic receptors on acetylcholine (Ach)-induced alterations of plasma gonadotropin and Prolactin (Prl) in conscious ovariectomized rats.

Brain Res. Bull, 5, 23-29

WEINER, R.J. und W.F. GANONG (1978): Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion.

Physiol. Rev. 58, 905-975

WURTMAN, R.J., F. LARIN, S. MOSTAFAPOUR und J.D. FERNSTORM (1974): Brain catechol synthesis: Control by brain tyrosine concentrations.

Sci. 185, 183-184

WURTMAN, R.J., F. HEFTI und E. MELAMED (1981): Precursor control of neurotransmitter synthesis.

Pharmacol. Rev. 32, 315-335

WURTMAN, R.J. (1982): Nährstoffe die Gehirnfunktionen  
fördern.

Aus: Scientific American, 4/82 in: Spektrum  
der Wissenschaft 6/82, 88-101

Herrn Prof. Dr. M. Rüsse möchte ich meinen besonderen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ferner gilt mein herzlicher Dank den Mitarbeitern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik, insbesondere Herrn Dr. J. Hammerl für seine gewährte Hilfe, sowie Frau Scheidter für die exzellente Mitarbeit bei der Fertigstellung der Arbeit.



## LEBENS LAUF

Am 3. September 1953 wurde ich in Saulgau als Tochter des Tierarztes Dr. Gottlieb Wetzel und seiner Ehefrau Brunhilde, geborene Fischer, geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Saulgau und im Anschluß daran das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Saulgau, an dem ich 1972 mit der allgemeinen Hochschulreife abschloß.

Von 1972 bis 1974 machte ich an der Naturwissenschaftlich-Technischen Akademie Prof. Dr. Grübler in Isny eine Ausbildung als Pharmazeutisch-Technische Assistentin.

Von 1974 bis 1977 arbeitete ich als Pharmazeutisch-Technische Assistentin an demselben Institut als Lehrassistentin.

Von 1977 bis 1983 studierte ich Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München und beendete das Studium 1983 mit dem Staatsexamen. Im Oktober 1983 erhielt ich die Approbation als Tierarzt.

Im Dezember 1983 begann ich an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München mit der Durchführung der vorliegenden Untersuchungen.



**profi**  

---

**druck** GmbH

Adalbertstr. 10 RG  
8000 München 40

Tel. 39 07 27

